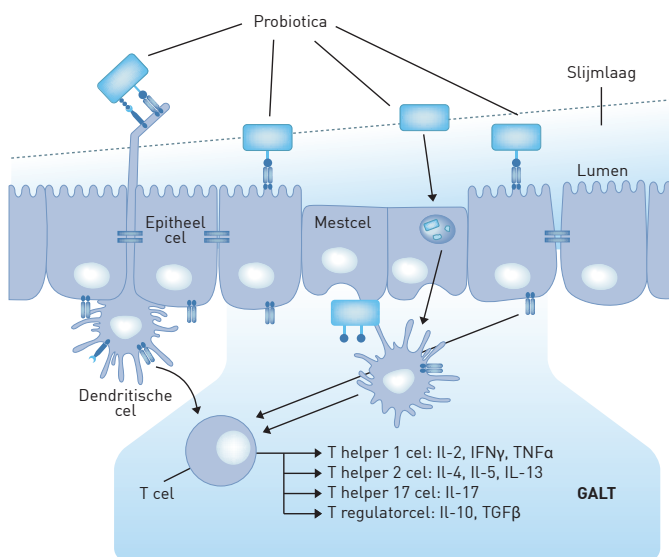


Probiotica: Interactie met het immuunsysteem

Probiotica kunnen de darm op verschillende niveaus ondersteunen. Naast het verbeteren van de samenstelling van de darmmicrobiota en het beschermen van de darmwand, kunnen probiotica de darmfunctie ondersteunen via communicatie met het immuunsysteem. Een goede ontwikkeling van dit systeem is erg belangrijk. Niet alleen om weerstand te kunnen bieden aan pathogenen, maar ook om te voorkomen dat het immuunsysteem gaat reageren terwijl dit niet nodig is. Dit is bijvoorbeeld het geval bij allergieën en auto-immuunziekten. Probiotica kunnen helpen bij de ontwikkeling en het juist functioneren van het immuunsysteem.

Darmmicrobiota en immuunsysteem

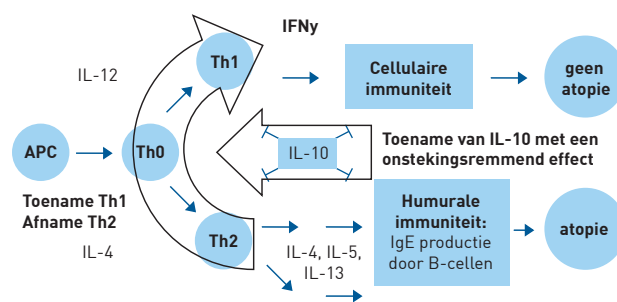
De darmmicrobiota staat in contact met het immuunsysteem via het 'Gut Associated Lymphoid Tissue' (GALT). Meer informatie hierover staat in het artikel 'Inleiding op darmwerking en probiotica'. Dat contact kan op drie manieren tot stand komen, waarbij steeds de dendritische cellen betrokken zijn (zie afbeelding 1). De eerste manier is via de voelsprietten van de dendritische cellen; de dendrietten. Deze dendrietten hebben vanuit het GALT dwars door de tight junctions contact met het darmlumen. Daar nemen ze monsters van diverse antigenen, zoals bacteriën, virussen of voedseldeeltjes. De tweede manier is door te hechten aan epitheelcellen. Hierdoor wordt de epitheelcel aangezet tot het afgeven van boodschappers, die weer contact maken met de dendritische cellen. Ten slotte kunnen antigenen ook door mestcellen (mastocyten) worden opgenomen en naar het GALT worden getransporteerd, alwaar ze contact maken met dendritische cellen.



Afbeelding 1 De drie manieren waarop probiotica met het GALT kunnen communiceren ⁽⁸⁾

Na contact met de darmmicrobiota stimuleren dendritische cellen de T-cellen, die zich dan verder ontwikkelen tot T-helpercellen of T-regulatorcellen ⁽⁸⁾. Deze kunnen op hun

beurt weer cytokinen produceren die een bepaalde immunologische reactie veroorzaken. In afbeelding 2 is APC de antigeenpresenterende cel. Dit is in de darm de dendritische cel.



Afbeelding 2 De positieve invloed van probiotica op Th1/Th2-balans

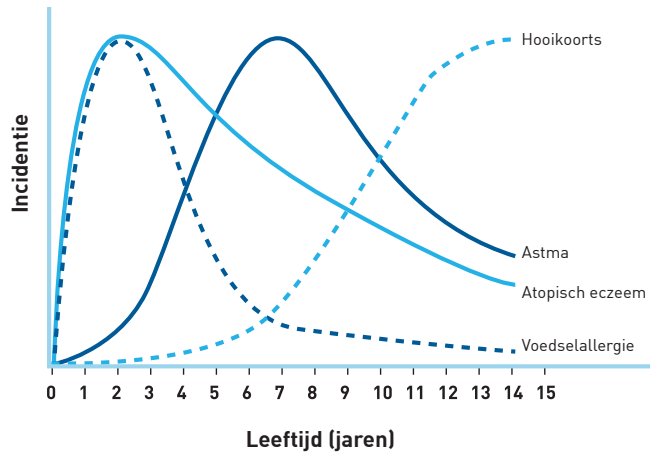
Er bestaan twee belangrijke groepen T-helper (Th)-cellen: Th1- en Th2-lymfocyten. Die produceren respectievelijk Th1- en Th2-cytokinen. Th1-cytokinen, waarvan interleukine (IL)-2, TNF- α en interferon (IFN)- γ de voornaamste vertegenwoordigers zijn, hebben als functie om de cellulaire immunitet en de werking van macrofagen te versterken. Deze vorm van afweer is bijvoorbeeld belangrijk bij een infectie, waar de cel zichzelf snel moet verdedigen. Th2-cytokinen, waaronder IL-4, IL-5 en IL-13, versterken de humorale immunitet (B-lymfocyten) en hun producten (immunoglobulinen). Th2-cellen zorgen dus voor de vrijmaking van antilichamen door de B-cellen. Dit speelt een belangrijke rol bij bijvoorbeeld allergieën en auto-immuunziekten. Er worden dan antilichamen gemaakt tegen stoffen waar het immuunsysteem helemaal niet op zou moeten reageren. Dat komt door een disbalans van de T-helpercellen richting Th2-cellen. Naast Th1- en Th2-lymfocyten is er nog een derde celtype: Th17. Deze cellen met een sterk pro-inflammatoir effect produceren het cytokine IL-17. Tijdens iedere immunerespons zullen er zowel Th1- als Th2-lymfocyten worden geactiveerd in een onderlinge balans. Die balans wordt gehandhaafd door de activiteit van een vierde type Th-lymfocyten, de zogenaamde regulatoire T-lymfocyt (Treg). In afbeelding 2 is deze weergegeven als Th0.

Via bovenstaande mechanismen communiceren probiotica met het immuunsysteem. Zo kunnen de korteketenvetzuren, geproduceerd door de bacteriën in de darm, in het GALT genexpressie van de immuuncellen beïnvloeden en daarmee de productie van cytokinen, zoals interleukine (IL)-8 en MCP-1⁽¹⁾. Ook kunnen de darmbacteriën het fagocytoseproces en de natural killer (NK)-cellen activeren. NK-cellen zijn betrokken bij de verdediging tegen virussen en tumorcellen. Ze doden cellen door middel van apoptose (geprogrammeerde celdood) en necrose (een ongecontroleerde vorm van celdood). Minder overtuigend zijn de aanwijzingen dat probiotica ook rechtstreeks cellen van het systemische (specifieke) immuunsysteem, zoals T- en B-cellen beïnvloeden. Verder zouden probiotica ook effect hebben op de productie van immunoglobulines (Ig) (zoals IgA en IgG). Immunoglobulines spelen een belangrijke rol bij het ontstaan van een allergische reactie. Een uitgebreid overzicht van de effecten van probiotica op het functioneren van het immuunsysteem, is gegeven door Lomax et al. in 2009⁽²⁾. Ook een review van Holmes et al. uit 2012 gaat hier verder op in⁽³⁾.

Allergie en atopie

Een allergie wordt veroorzaakt door een ongewone reactie van het immuunsysteem. Voor een gebalanceerde ontwikkeling van het immuunsysteem vanaf de geboorte is voldoende prikkeling door micro-organismen vereist. Onderzoek heeft de laatste jaren veel duidelijk gemaakt over de relatie tussen darmbacteriën en het ontstaan van allergie. Het is mogelijk gebleken om door toediening van geselecteerde probiotica de darmmicrobiota zodanig te beïnvloeden dat de kans op het ontstaan van allergieën kleiner wordt.

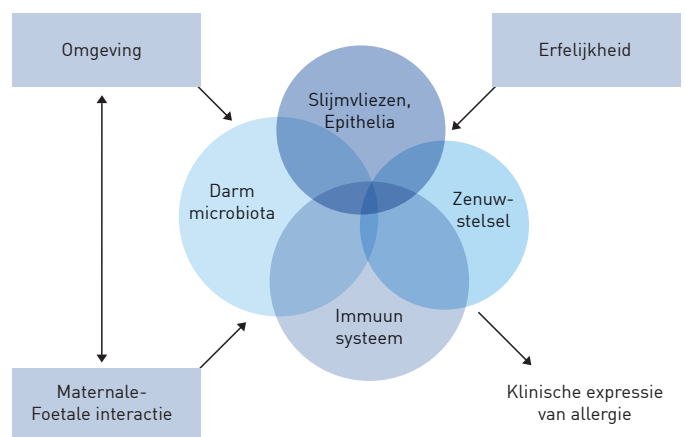
Een allergie is een overgevoeligheidsreactie die wordt gemedieerd door immunologische mechanismen. Het gaat om inhalatie- en voedselallergenen, meestal eiwitten uit pollen, huisstofmijt, schimmels, huidschilfers van huisdieren, koemelk, ei, noten, vis, pinda of gluten. Atopie is de erfelijke aanleg om, meestal als kind of jongere, een IgE-antilichaam gemedieerde (type 1 of directe type) allergie te ontwikkelen na blootstelling aan onschuldige omgevingsallergenen. Tot de atopische allergieën behoren atopisch eczeem, hooikoorts, bronchiale astma en (IgE-gemedieerde) voedselallergie. Ze kunnen in combinatie voorkomen en is er sprake van het atopisch syndroom. Vaak is atopisch eczeem de eerste uiting van allergie door atopische aanleg. Essentieel voor de diagnose is dat IgE aangetoond is in serum of met een positieve huidpriktest. Bij jonge kinderen is eczeem de eerste manifestatie van een allergie, later gevolgd door astma en hooikoorts. De progressie van allergie bij zuigelingen tot atopische aandoeningen, zoals atopisch eczeem, allergische rinitis (hooikoorts) en astma, komt steeds vaker voor en wordt ook wel de allergische mars genoemd (zie afbeelding 3).



Afbeelding 3 De Allergische Mars: Een algemeen beeld van de vormen van allergie bij verschillende leeftijden

Oorzaken van allergie

Er zijn allergische aandoeningen met een sterk genetische component, zoals astma. Een groot aantal genen, waarvan de meeste betrokken zijn bij regulatie van het immuunsysteem, zijn geassocieerd met astma⁽⁴⁾. De kans dat een kind in Nederland een allergische ziekte ontwikkelt bedraagt 15%. Maar wanneer moeder en vader, of moeder en een ouder kind uit het gezin een allergische ziekte hebben, is die kans 50-80%. Allergie en astma zijn echter niet alleen genetisch bepaalde aandoeningen; ook de omgeving speelt een belangrijke rol bij het ontstaan van deze ziekten (zie afbeelding 4). Eigenlijk zijn het schoolvoorbeelden van gen-omgevingsziekten. Er zijn ook epidemiologische aanwijzingen voor een rol van de omgeving bij het ontstaan van allergische ziekten die binnen de zogenaamde hygiënehypothese passen. Deze hypothese stelt dat door de toegenomen hygiëne het immuunsysteem onvoldoende microbiologische prikkels ontvangt en zich daardoor niet goed ontwikkelt⁽⁵⁾.



Afbeelding 4 Factoren die een rol spelen bij allergische ziekten

Allergie: het immuunsysteem uit balans

Astma en andere allergische aandoeningen zijn ziekten van het immuunsysteem. Direct na de geboorte helt in het immuunsysteem van de baby de balans tussen Th1 en Th2 richting Th2.

Dit wordt veroorzaakt doordat de Th1-cellen nog onderontwikkeld zijn. Het is niet goed bekend waarom dit zo is, maar het zou te maken kunnen hebben met het voorkomen van immunologische afstotingsverschijnselen tijdens de zwangerschap. Direct na de geboorte wordt het immuunsysteem van de baby blootgesteld aan allerlei (microbiologische) prikkels en dat leidt tot ontwikkeling van Th1-lymfocyten, en als gevolg daarvan tot een betere balans tussen Th1 en Th2. De afwijkingen van het immuunsysteem die worden gevonden bij allergische ziekten – verhoogde concentraties IgE antilichamen en toegenomen hoeveelheden eosinofiele granulocyten – zijn terug te voeren op een verhoogde productie van Th2-cytokinen. Blijkbaar is het immuunsysteem niet goed in staat om de balans te handhaven. Dit is ook in onderzoek bevestigd; bij patiënten met een allergische ziekte wordt een tekort aan regulatoire T-lymfocyten gevonden ⁽⁶⁾.

De relatie tussen darmmicrobiota en allergie

De sterke toename van het aantal mensen dat een allergie ontwikkelt gedurende de laatste decennia is in verband gebracht met sterke veranderingen in de omgeving. Er is krachtig bewijs uit epidemiologische studies dat de westerse leefwijze, zoals verminderde consumptie van gefermenteerd voedsel, toegenomen gebruik van antibiotica en andere medicatie en toegenomen hygiëne, bijdragen aan de toename van deze incidentie ^(7, 8). Verder toont recent onderzoek aan dat leven op de boerderij en een antroposofische leefwijze kunnen beschermen tegen het ontwikkelen van een allergie ^(9, 10). Kenmerkend hiervoor is het regelmatig vertoeven in stallen, maar ook de biologisch dynamische landbouw, gebruik van biologisch voedsel, beperkte toepassing van vaccinaties en antibiotica. De darmmicrobiota van kinderen met een antroposofische leefwijze en kinderen die op de boerderij opgroeien wijken significant af van die van kinderen met andere leefstijlen. Dit duidt weer op het belang van de darmmicrobiota bij de ontwikkeling van allergieën ⁽¹¹⁾. Uit onderzoek van de darmmicrobiota van kinderen die later een allergische aandoening ontwikkelen blijkt dat ze lagere aantallen lactobacillen en bifidobacteriën hebben dan gezonde kinderen ⁽¹²⁾. Daarnaast is het ontwikkelen van een allergische aandoening ook geassocieerd met een lagere diversiteit van de microbiota ⁽¹³⁾. Dit levert een sterke rationale voor de toepassing van probiotica om de darmmicrobiota te beïnvloeden en daarmee ook de immunrespons, in het bijzonder bij zuigelingen. Daarbij kunnen probiotica ook worden overwogen voor de behandeling van bestaande allergie vanwege de immunomodulerende eigenschappen.

Effect van probiotica bij allergie in klinische studies

In vitro, maar ook in vivo is aangetoond dat geselecteerde probiotische bacteriën in staat zijn om de productie van Th2-cytokinen te remmen. Dit verloopt via versterking van de functie van regulatoire T-lymfocyten. In vitro- en dierstudies hebben aangetoond dat probiotische bacteriën

dit kunnen via het verhogen van IL-10, cytokinen met een over het algemeen ontstekingsremmende werking. Zo zou dus via beïnvloeding van darmmicrobiota de balans in het immuunsysteem worden aangebracht of hersteld en daarmee een allergische ziekte worden voorkomen.

Probiotica en de behandeling van atopisch eczeem

De meeste klinische studies naar de relatie tussen probiotica en allergie zijn gedaan bij kinderen met eczeem en atopisch eczeem. *Lactobacillus GG* is de stam die het meest onderzocht is. Uit de eerste studies met deze stam bleek een therapeutisch effect bij zowel eczeem als atopisch eczeem ^(14, 15, 16). Recentere studies laten alleen een effect zien bij patiënten met atopisch eczeem ^(17, 18) of helemaal geen effect ⁽¹⁹⁾. Waarschijnlijk komt dit door de verschillende opzet van de studies en het gebruik van verschillende probiotische formules. Op dit moment zijn er onvoldoende gegevens om te kunnen concluderen dat je met probiotica eczeem kunt genezen. Als onderdeel van een totaalbehandeling kunnen probiotica helpen het immuunsysteem weer in balans te brengen.

Probiotica en de behandeling van allergische rinitis en astma Naast een kleine studie met *Lactobacillus acidophilus* bij volwassenen met astma ⁽²⁰⁾, een Finse studie met allergische marathonlopers die *Lactobacillus GG* gebruikten, en een Italiaanse interventiestudie met *Lactobacillus casei* bij kinderen tussen twee en vijf jaar ^(21, 22), zijn alle andere gerandomiseerde placebogecontroleerde klinische studies met probiotica bij respiratoire allergische aandoeningen gedaan bij tieners en volwassenen met allergische rinitis (hooikoorts). Alleen bij de studies met allergische rinitis werden met specifieke stammen van *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus paracasei* en *Lactobacillus acidophilus* klinische verbeteringen aangetoond of verbetering van kwaliteit van leven aangetoond ⁽²³⁻²⁶⁾.

Probiotica in de preventie van atopische aandoeningen

Voor de rol van probiotica in de preventie van allergieën is meer onderzoek beschikbaar en er lopen momenteel diverse preventieve studies. Er zijn tot nu toe acht preventieve studies met verschillende *Lactobacillus*- of *Bifidobacterium*-stammen (of een mix) gepubliceerd bij kinderen met een verhoogd risico voor het ontwikkelen van allergieën ⁽²⁷⁻³⁴⁾. Daarnaast is er nog een studie uitgevoerd met een mix van vier verschillende stammen en galactooligosacharden ^(35, 36). Het eerste onderzoek naar een mogelijk beschermend effect van modulatie van de darmmicrobiota op het ontstaan van een allergische ziekte is gedaan door Kalliomäki et al. Hij diende Zweedse baby's, geboren uit hoogrisico-families, *Lactobacillus GG* toe. Dit leidde tot een significante vermindering van de kans op atopisch eczeem en dit effect hield ten minste zeven jaar aan. De probiotica werden gedurende het eerste levensjaar gegeven. Er werd geen effect gevonden op het ontstaan van astma ^(27, 29, 30).

Een subgroepanalyse van het cohort wees uit dat suppletie bij de moeder gedurende de zwangerschap en de periode van borstvoeding de weerstand verhogende kracht van borstvoeding vergrootte, wat de kans op het ontwikkelen van atopisch eczeem in de eerste twee levensjaren verlaagde⁽³⁷⁾. Sinds deze eerste studie zijn er meer onderzoeken geweest, met wisselende uitkomsten⁽³⁸⁾. In Duitsland is de studie van Kalliomäki herhaald, eveneens met hoogrisico-baby's en gebruikmakend van dezelfde probiotische bacterie. Hierbij werd echter geen enkel beschermend effect gevonden⁽²⁸⁾. De oorzaak hiervan is onduidelijk maar het kan zijn dat de genetische en omgevingsfactoren toch zodanig verschillen dat deze ene bacterie niet 'universeel' toepasbaar is. Gebruik van *Lactobacillus reuteri* gedurende één maand voor en twaalf maanden na de geboorte werd in verband gebracht met een verminderd risico op atopisch eczeem gedurende het tweede levensjaar. Deze stam verminderde ook de atopische sensibilisatie bij kinderen van allergische moeders⁽³¹⁾. In een preventieve studie bij hoogrisico-baby's werden twee stammen vergeleken en bleek dat *Lactobacillus rhamnosus* wel en *Bifidobacterium animalis* geen reductie van de cumulatieve prevalentie van eczeem teweegbracht op de leeftijd van twee jaar⁽³²⁾. Uit deze resultaten valt af te leiden dat een aantal probiotische stammen kunnen worden ingezet om te voorkomen dat kinderen van allergische ouders last van atopisch eczeem krijgen. Echter, genetische en omgevingsfactoren bepalen welk probioticum het beste zal werken. Dit is erg lastig vast te stellen. Je hebt immers maar één keer de kans per zwangerschap om het te proberen. Hier is dus nog veel onderzoek nodig.

De PANDA-studie

In de PANDA-studie werd een mix gebruikt van drie probiotische stammen, *Bifidobacterium Bifidum*, *Bifidobacterium lactis* en *Lactococcus lactis*, die in vitro geselecteerd waren op hun vermogen om de overmatige activiteit van Th2-lymfocyten te onderdrukken. Deze onderdrukking bleek te berusten op versterking van de IL-10-productie. De stammen die het best in staat waren om de IL-10-productie te induceren hadden de beste IL-5-suppressieve eigenschappen^(39, 40). De mix of placebo werd gegeven vanaf zes weken voor de bevalling aan de moeders van hoogrisico-kinderen en na de bevalling kreeg het kind borst- of flesvoeding en gedurende een jaar dagelijks de probiotica (1 x 10⁹ kve per stam per dag) of een placebo toegediend. De probiotica bleken in staat om de ontwikkeling van het immuunsysteem te moduleren: op de leeftijd van drie maanden was er een lagere productie van IL-5 en IL-13, twee belangrijke Th2-cytokinen. Door de ouders van 29% van de kinderen uit de placebogroep werd eczeem gerapporteerd op de leeftijd van drie maanden, tegen slechts 12% in de probioticagroep. Uit deze data blijkt dat in de probioticagroep de kans op eczeem significant daalde (58%) ten opzichte van de placebogroep. Dit effect kwam in de eerste drie maanden tot stand en hield aan gedurende twee jaar.

De nauwkeurige analyse van de darmmicrobiota in de ontlasting van de baby's - op een, twee en drie weken en een, twee en drie maanden - liet zien dat succesvolle verandering van de darmmicrobiota in de eerste maand geassocieerd was met bescherming tegen eczeem.

Probiotica en IBD

Ook bij IBD is overduidelijk sprake van een probleem in het immuunsysteem. Probiotica kunnen bij IBD, met name bij colitis ulcerosa, ontstekingsreacties remmen omdat ze het juist functioneren van het immuunsysteem stimuleren^(41, 42, 43). Op die manier kunnen ze helpen om het opvlammen zo lang mogelijk uit te stellen of in ernst te verminderen. Dit geldt ook voor pouchitis, de ontsteking van de pouch van stomapatiënten⁽⁴⁴⁾.

Daarnaast zorgen de ontstekingsremmende eigenschappen van visolie, fructo-oligosacchariden en de antioxidanten vitamine E, vitamine C en selenium bij colitis ulcerosa klinisch voor verbetering⁽⁴⁵⁾. Ook bepaalde plantensappen hebben ontstekingsremmende effecten. Ze kunnen daarom goed met probiotica worden gecombineerd. Aloë vera-gel bijvoorbeeld bevat endogeen cyclo-oxygenase, dat remmend werkt op ontstekingsbevorderende prostaglandines⁽⁴⁶⁾. Daarom heeft Aloë vera-gel een gunstig effect bij ulceratieve colitis^(47, 48). Bromelaïne heeft eveneens zo'n ontstekingsremmend effect en wordt bij milde colitis ingezet⁽⁴⁹⁾.

Omdat bij de ziekte van Crohn de dunne darm is aangetast, is er vaak sprake van malabsorptie van micronutriënten met deficiënties tot gevolg⁽⁵⁰⁾. Een multivitaminen- en mineralenpreparaat kan dan deficiënties voorkomen. Zo bleek suppletie met vitamine D botverlies te voorkomen bij Crohn-patiënten, die door hun ziekte een verhoogd risico op osteoporose hebben^(51, 52). Een hoge vitamine D-status is overigens ook in verband gebracht met een verminderd risico op het ontwikkelen van de ziekte van Crohn⁽⁵³⁾. Door de ontsteking is er ook verval van weefsel en daardoor een verhoogde behoefte aan nutriënten. Stoffen als N-acetyl-D-glucosamine, wei en l-glutamine kunnen in die behoefte voorzien.

Bij de ziekte van Crohn, een auto-immuunziekte, is voorzichtigheid geboden met het gebruik van probiotica. Klinische resultaten duiden niet op een gunstig effect. Daarnaast sturen veel probiotica de Th1/Th2-ratio de kant op van Th1. Zoals bij veel auto-immuunziekten vormt een disbalans richting Th1-cellen, en ook Th17-cellen, bij de ziekte van Crohn het probleem^(54, 55). Bij colitis ulcerosa, waar probiotica klinisch meer effect hebben, is sprake van een disbalans richting Th2-cellen⁽⁵⁶⁾. Dit zou kunnen verklaren waarom probiotica bij de ziekte van Crohn geen positief of zelfs een nadelig effect hebben en bij colitis ulcerosa juist wel een gunstig effect hebben.

Conclusie

De darmmicrobiota communiceert met het immuunsysteem. Inclusief de eerste publicatie in 1997⁽¹⁴⁾ zijn er inmiddels meer dan 25 gerandomiseerde, dubbelblinde placebogecontroleerde klinische studies gedaan naar de effecten van diverse probiotica op de behandeling en preventie van allergische aandoeningen⁽⁵⁷⁾. In totaal hebben tot nu toe bijna 3.000 individuen deelgenomen aan deze studies^(38, 58-60). Algemeen kan worden geconcludeerd dat het bewijs voor preventie van atopische aandoeningen groter is dan voor de behandeling van atopisch eczeem en dat de probiotische benadering zeker nader onderzocht dient te worden.

Op het gebied van de behandeling van hooikoorts en astma lieten negen van de twaalf studies een verbetering zien als gevolg van probiotica-gebruik bij allergische rinitis en verminderd medicatiegebruik. De studies die het effect van probiotica op astma onderzochten lieten geen positief effect zien⁽⁶¹⁾. Het is niet realistisch om te veronderstellen dat een enkele stam of een combinatie van specifieke stammen beschermt tegen alle manifestaties van allergie gedurende alle periodes in het leven. Voor probiotica in relatie tot allergie geldt het motto: je kunt niet vroeg genoeg beginnen, omdat het immuunsysteem het gemakkelijkst is te beïnvloeden in het vroege leven.

Voor de behandeling van allergie met probiotica alleen is onvoldoende bewijs, maar als onderdeel van een therapie zal het ondersteuning bieden bij het in balans brengen van het immuunsysteem. Ook bij andere problemen met het immuunsysteem, zoals IBD, kunnen probiotica helpen de ontsteking te verzachten. Dit geldt in bepaalde mate voor bijvoorbeeld colitis ulcerosa en pouchitis. Bij auto-immuunziekten, zoals de ziekte van Crohn, is voorzichtigheid geboden. Probiotica hebben hier waarschijnlijk geen, of zelfs een negatief effect.

Referenties

- Sanderson IR. Dietary Modulation of GALT. *The Journal of Nutrition*, 2007. 137(11):2557S-2562S.
- Lomax AR, Calder PC. Probiotics, immune function, infection and inflammation: A review of the evidence from studies conducted in humans. *Current Pharmaceutical Design*, 2009. 15(13):1428-1518.
- Holmes E et al. Therapeutic modulation of microbiota-host metabolic interactions. *Sci Transl Med*, 2012. 4(137):137rv6.
- Grammatikos AP. The genetic and environmental basis of atopic diseases. *Ann Med*, 2008. 40(7):482-495.
- Rook GA. Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: the broader implications of the hygiene hypothesis. *Immunology*, 2009. 126(1):3-11.
- van der Velden VH et al. Selective development of a strong Th2 cytokine profile in high-risk children who develop atopy: risk factors and regulatory role of IFN-gamma, IL-4 and IL-10. *Clin Exp Allergy*, 2001. 31(7):997-1006.
- Prioult G, Nagler-Anderson C. Mucosal immunity and allergic responses: lack of regulation and/or lack of microbial stimulation? *Immunol Rev*, 2005. 206:204-218.
- Schaub B, Lauener R, von Mutius E. The many faces of the hygiene hypothesis. *J Allergy Clin Immunol*, 2006. 117(5):969-977; quiz 978.
- Wong GW et al. Environmental determinants associated with the development of asthma in childhood. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2006. 10(3):242-251.
- Ege MJ et al. Not all farming environments protect against the development of asthma and wheeze in children. *J Allergy Clin Immunol*, 2007. 119(5):1140-1147.
- Alm JS et al. An anthroposophic lifestyle and intestinal microflora in infancy. *Pediatr Allergy Immunol*, 2002. 13(6):402-411.
- Kalliomaki M et al. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J Allergy Clin Immunol*, 2001. 107(1):129-134.
- Bisgaard H et al. Reduced diversity of the intestinal microbiota during infancy is associated with increased risk of allergic disease at school age. *J Allergy Clin Immunol*. 128(3):646-652 e1-5.
- Majamaa H, Isolauri E. Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol*, 1997. 99(2):179-185.
- Isolauri E et al. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin Exp Allergy*, 2000. 30(11):1604-1610.
- Rosenfeldt V et al. Effect of probiotic Lactobacillus strains in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 2003. 111(2):389-395.
- Viljanen M et al. Induction of inflammation as a possible mechanism of probiotic effect in atopic eczema-dermatitis syndrome. *J Allergy Clin Immunol*, 2005. 115(6):1254-1259.
- Weston S et al. Effects of probiotics on atopic dermatitis: a randomised controlled trial. *Arch Dis Child*, 2005. 90(9):892-897.
- Brouwer ML et al. No effects of probiotics on atopic dermatitis in infancy: a randomized placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy*, 2006. 36(7):899-906.
- Wheeler JG et al. Immune and clinical impact of Lactobacillus acidophilus on asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 1997. 79(3):229-233.
- Moreira A et al. Allergy in marathon runners and effect of Lactobacillus GG supplementation on allergic inflammatory markers. *Respir Med*, 2007. 101(6):1123-1131.
- Giovannini M et al. A randomized prospective double blind controlled trial on effects of long-term consumption of fermented milk containing Lactobacillus casei in pre-school children with allergic asthma and/or rhinitis. *Pediatr Res*, 2007. 62(2):215-220.
- Wang MF et al. Treatment of perennial allergic rhinitis with lactic acid bacteria. *Pediatr Allergy Immunol*, 2004. 15(2):152-158.
- Peng GC, Hsu CH. The efficacy and safety of heat-killed Lactobacillus paracasei for treatment of perennial allergic rhinitis induced by house-dust mite. *Pediatr Allergy Immunol*, 2005. 16(5):433-438.
- Ishida Y et al. Clinical effects of Lactobacillus acidophilus strain L-92 on perennial allergic rhinitis: a double-blind, placebo-controlled study. *J Dairy Sci*, 2005. 88(2):527-533.
- Xiao JZ et al. Probiotics in the treatment of Japanese cedar pollinosis: a double-blind placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy*, 2006. 36(11):1425-1435.
- Kalliomaki M et al. Probiotics during the first 7 years of life: a cumulative risk reduction of eczema in a randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*, 2007. 119(4):1019-1021.
- Kopp MV et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of probiotics for primary prevention: no clinical effects of Lactobacillus GG supplementation. *Pediatrics*, 2008. 121(4):e850-e856.

29. Kalliomaki M et al. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 2001. 357(9262):1076-1079.
30. Kalliomaki M et al. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 2003. 361(9372):1869-1871.
31. Taylor AL, Dunstan JA, Prescott SL. Probiotic supplementation for the first 6 months of life fails to reduce the risk of atopic dermatitis and increases the risk of allergen sensitization in high-risk children: a randomized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*, 2007. 119(1):184-191.
32. Abrahamsson TR et al. Probiotics in prevention of IgE-associated eczema: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*, 2007. 119(5):1174-1180.
33. Wickens K et al. A differential effect of 2 probiotics in the prevention of eczema and atopy: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*, 2008. 122(4):788-794.
34. Soh SE et al. Probiotic supplementation in the first 6 months of life in at risk Asian infants - effects on eczema and atopic sensitization at the age of 1 year. *Clin Exp Allergy*, 2009. 39(4):571-578.
35. Kukkonen K et al. Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol*, 2007. 119(1):192-198.
36. Kuitunen M et al. Probiotics prevent IgE-associated allergy until age 5 years in cesarean-delivered children but not in the total cohort. *J Allergy Clin Immunol*, 2009. 123(2):335-341.
37. Rautava S, Kalliomaki M, Isolauri E. Probiotics during pregnancy and breast-feeding might confer immunomodulatory protection against atopic disease in the infant. *J Allergy Clin Immunol*, 2002. 109(1):119-121.
38. Prescott SL, Bjorksten B. Probiotics for the prevention or treatment of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol*, 2007. 120(2):255-262.
39. Niers LE et al. Identification of strong interleukin-10 inducing lactic acid bacteria which down-regulate T helper type 2 cytokines. *Clin Exp Allergy*, 2005. 35(11):1481-1489.
40. Niers LE et al. Selection of probiotic bacteria for prevention of allergic diseases: immunomodulation of neonatal dendritic cells. *Clin Exp Immunol*, 2007. 149(2):344-352.
41. Gionchetti P et al. Oral bacteriotherapy as maintenance treatment in patients with chronic pouchitis: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology*, 2000. 119(2):305-309.
42. Fedorak RN, Madsen KL. Probiotics and prebiotics in gastrointestinal disorders. *Curr Opin Gastroenterol*, 2004. 20(2):146-155.
43. de Greef E et al. Probiotics and IBD. *Acta Gastro-Enterologica Belgica*, 2013. 76(1):15-19.
44. Gionchetti P et al. Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology*, 2003. 124(5):1202-1209.
45. Seidner DL et al. An oral supplement enriched with fish oil, soluble fiber, and antioxidants for corticosteroid sparing in ulcerative colitis: a randomized, controlled trial. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2005. 3(4):358-369.
46. Afzal M. Identification of some prostanoids in aloe vera extracts. *Planta Med*, 1991. 57:38-40.
47. Langmead L et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of oral aloe vera gel for active ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther*, 2004. 19(7):739-747.
48. Langmead L, Makins RJ, Rampton DS. Anti-inflammatory effects of aloe vera gel in human colorectal mucosa in vitro. *Aliment Pharmacol Ther*, 2004. 19(5):521-527.
49. Hale LP et al. Treatment with oral bromelain decreases colonic inflammation in the IL-10-deficient murine model of inflammatory bowel disease. *Clin Immunol*, 2005. 116(2):135-142.
50. Hwang C, Ross V, Mahadevan U. Micronutrient deficiencies in inflammatory bowel disease: From A to zinc. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2012. 18(10):1961-1981.
51. Shirazi KM et al. Bone density and bone metabolism in patients with inflammatory bowel disease. *Saudi Journal of Gastroenterology*, 2012. 18(4):241-247.
52. Vogelsang H et al. Prevention of bone mineral loss in patients with Crohn's disease by long-term oral vitamin D supplementation. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 1995. 7(7):609-614.
53. Ananthakrishnan AN et al. Higher predicted vitamin D status is associated with reduced risk of Crohn's disease. *Gastroenterology*, 2012. 142(3):482-489.
54. Adorini L, Trembleau S. Role of IL-12 in Th1-mediated autoimmune diseases. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 1997. 10(2 SUPPL.):107-110.
55. Brand S. Crohn's disease: Th1, Th17 or both? The change of a paradigm: New immunological and genetic insights implicate Th17 cells in the pathogenesis of Crohn's disease. *Gut*, 2009. 58(8):1152-1167.
56. Fuss IJ et al. Nonclassical CD1d-restricted NK T cells that produce IL-13 characterize an atypical Th2 response in ulcerative colitis. *Journal of Clinical Investigation*, 2004. 113(10):1490-1497.
57. Kalliomaki M et al. Guidance for substantiating the evidence for beneficial effects of probiotics: prevention and management of allergic diseases by probiotics. *J Nutr*, 2010. 140(3):713S-721S.
58. Stsepetova J et al. Molecularly assessed shifts of *Bifidobacterium* spp. and less diverse microbial communities are characteristic of 5-year-old allergic children. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2007. 51(2):260-269.
59. Betsi GI, Papadavid E, Falagas ME. Probiotics for the treatment or prevention of atopic dermatitis: a review of the evidence from randomized controlled trials. *Am J Clin Dermatol*, 2008. 9(2):93-103.
60. Caramia G, Atzei A, Fanos V. Probiotics and the skin. *Clin Dermatol*, 2008. 26(1):4-11.
61. Vliagoftis H et al. Probiotics for the treatment of allergic rhinitis and asthma: systematic review of randomized controlled trials. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2008. 101(6):570-579.